

Keragaman Genotipik dan Fenotipik 48 Aksesori Kedelai Introduksi Asal Cina

(Genotypic and Phenotypic Diversities of 48 Introduced Soybean Accessions Originated from China)

Rerenstradika T. Terryana*, Kristianto Nugroho, Reflinur, Karden Mulya, Nurwita Dewi, dan Puji Lestari

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia
(0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: re2n_terryana@ymail.com

Diajukan: 3 Januari 2017; Direvisi: 1 Maret 2017; Diterima: 17 April 2017

ABSTRACT

Being one of important food crop commodity in Indonesia after rice and maize, soybean needs to be genetically improved and are broaden their diversity by introducing accessions from other country especially China as one of soybean origin country. Simple sequence repeat (SSR) markers can be used to study the genetic diversity among introduced soybean accessions. This study aimed to analyze the relationship among 48 lines of soybean originated from China using 15 SSR markers. PCR was performed and the SSR data were subjected to statistical and genetic diversity analysis using corresponding softwares of XLSTAT, NTSYS, and PowerMarker. Their morphological characters were also accessed from Germplasm Resources Information Network (GRIN), United States Department of Agriculture (USDA) database (www.ars-grin.gov) to support molecular characterization. Morphological character of each soybean accessions contributed to support the result of molecular characterization. The result showed that 48 soybeans used in this study were diverse based on morphological and molecular characters. Based on principle component analysis, character of plant height, weight of 100 seeds, yield, hilum colour, trichome colour, flower colour, and pod colour contributed most of total diversity. The results showed that high allele variation (9–25 alleles) was observed among tested soybean lines, with an average allele number and Polymorphism Information Content (PIC) value of 15.6 and 0.89 (0.84–0.94), respectively. All of SSR markers showed PIC value >0,5 indicating that these markers were suitable for soybean diversity studies with high differentiation and with the average value of genetic diversity of 0.90. The phylogenetic and principle coordinate analysis showed that all soybean lines originated from China divided into three groups (coefficient of similarity 0.84 in phylogenetic analysis). Associations between SSR markers and morphological character were also investigated. Significant associations were found for seven SSR marker loci. The percentage of the total variation explained by each marker ranged from 17.25% to 78.45%. GMES2225 and Sat_286 were associated with seed coat colour, while GmF35H was associated with plant height. Genetic diversity analysis in this study will be useful as an initial basis of selection for appropriate parents with desired traits to assist breeding program of soybean in Indonesia.

Keywords: Soybean, China, genetic diversity, SSR marker.

ABSTRAK

Sebagai salah satu komoditas tanaman pangan penting di Indonesia setelah padi dan jagung, kedelai memerlukan upaya peningkatan keragaman genetik dengan cara introduksi aksesori dari negara lain terutama Cina sebagai salah satu negara asal kedelai di dunia. Marka *simple sequence repeat* (SSR) dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik antaraksesori kedelai introduksi. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari keragaman genotipik dan fenotipik 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina menggunakan 15 marka SSR. Analisis DNA dilakukan menggunakan PCR dan data hasil PCR menggunakan marka SSR dianalisis menggunakan perangkat lunak XLSTAT, NTSYS, dan *PowerMarker*. Data karakter morfologis diperoleh dari basis data *Germplasm Resources Information Network* (GRIN), *United States Department of Agriculture* (USDA) (www.ars-grin.gov). Data ini digunakan sebagai data keragaman fenotipik yang diperlukan untuk menunjang hasil karakterisasi molekuler. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat keragaman karakter morfologis dan molekuler antaraksesori kedelai yang dipelajari. Berdasarkan hasil analisis komponen utama, karakter tinggi tanaman, bobot 100 biji, hasil biji, warna pusar biji, warna trikoma, warna bunga, dan warna polong berkontribusi besar terhadap keragaman total. Analisis molekuler menggunakan marka SSR menunjukkan bahwa terdapat variasi alel yang cukup tinggi (9–25 alel) di antara aksesori kedelai dengan rerata jumlah alel 15,6, sedangkan rerata nilai *Polymorphism Information Content* (PIC) sebesar 0,89 (0,84–0,94). Seluruh marka SSR memiliki nilai PIC>0,5 yang menunjukkan bahwa marka tersebut informatif untuk studi keragaman genetik kedelai dengan rerata nilai diversitas gen sebesar 0,90. Hasil analisis filogenetik dan analisis koordinat utama menunjukkan bahwa 48 aksesori tersebut mengelompok menjadi tiga dengan koefisien kemiripan 0,84. Pada penelitian ini dilakukan pula uji asosiasi antara marka SSR dan karakter morfologis. Asosiasi yang signifikan ditemukan pada tujuh lokus marka SSR. Persentase keragaman total yang dapat dijelaskan oleh marka SSR tersebut, yaitu 17,25–78,45%. Marka GMES2225 dan Sat_286 berasosiasi dengan warna kulit biji, sedangkan marka GmF35H berasosiasi dengan tinggi tanaman. Informasi keragaman genetik akan sangat bermanfaat sebagai langkah awal untuk kegiatan seleksi tetua persilangan dengan sifat yang diinginkan dalam membantu program pemuliaan kedelai di Indonesia.

Kata kunci: Kedelai, Cina, keragaman genetik, marka SSR.

PENDAHULUAN

Kedelai merupakan salah satu komoditas tanaman pangan penting di Indonesia sehingga penelitian mengenai kedelai termasuk dalam prioritas penelitian tanaman pangan. Kedelai diduga berasal dari daratan Cina bagian utara dan telah dibudidayakan sejak 2.500 SM (Jamet dan Chaumet 2016; Qiu et al. 2013; Sumarno dan Hartono 1983). Permintaan kedelai di Indonesia terus meningkat seiring dengan peningkatan jumlah penduduk karena hampir seluruh masyarakat Indonesia menyukai makanan yang terbuat dari bahan baku kedelai. Pemerintah telah mencanangkan program pencapaian swasembada komoditas kedelai melalui akselerasi peningkatan produksi dan produktivitas kedelai dalam rangka mengurangi ketergantungan terhadap kedelai impor (Dirjen Tanaman Pangan 2015).

Peningkatan produktivitas kedelai melalui perbaikan varietas dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya dengan pendayagunaan aksesori introduksi. Aksesori kedelai yang diintroduksi dari wilayah atau negara lain, seperti Cina, berpotensi sebagai sumber gen dalam program pemuliaan seleksi. Hal ini disebabkan Cina merupakan salah satu negara asal kedelai yang memiliki tingkat variasi morfologis tinggi (Mahbub et al. 2016; Ying-hui et al. 2008). Aksesori introduksi yang memiliki kelebihan adaptabilitas tinggi dengan penampilan agronomis baik dan hasil tinggi sangat berpeluang untuk dilepas menjadi varietas unggul nasional dan sumber gen atau tetua persilangan untuk perbaikan varietas. Dari 68 varietas unggul kedelai yang telah dilepas di Indonesia sejak tahun 1965, sebanyak 14 varietas merupakan aksesori introduksi dari luar negeri dan beberapa di antaranya dari Cina (Asadi 2014). Varietas hasil introduksi dari Cina dikembangkan pertama kali di Indonesia pada tahun 1919, yaitu varietas No. 27 dan 29 yang kemudian digunakan sebagai tetua persilangan untuk mendapatkan varietas unggul baru Ringgit dan Davros yang memiliki sifat genjah dan berdaya hasil tinggi (Winarno 1976). Aksesori kedelai introduksi Cina yang dikoleksi di Bank Gen BB Biogen sejak tahun 2007 diketahui memiliki karakter agronomis yang lebih baik dibanding dengan varietas lokal dengan ukuran biji besar dan daya adaptasi yang tinggi (Asadi 2014).

Proses pemuliaan yang dilakukan sebelum pelepasan aksesori introduksi menjadi varietas unggul baru nasional dilakukan secara bertahap, mulai dari seleksi, uji daya hasil, dan uji adaptasi di berbagai lokasi. Aksesori introduksi yang memiliki karakter morfologi agronomis sesuai dengan iklim dan agrosistem di negara asalnya memerlukan waktu tertentu untuk beradaptasi di lingkungan negara tropis seperti Indonesia (Asadi 2014). Oleh karena itu, karakterisasi

aksesori introduksi sangat perlu dilakukan, baik secara morfologis maupun molekuler. Karakter morfologis merupakan wujud nyata keragaman fenotipik, akan tetapi karakter morfologis merupakan hasil interaksi antara genotipe dan lingkungannya sehingga seringkali sulit untuk membedakan apakah karakter tersebut bersifat genetik atau lebih banyak dipengaruhi oleh lingkungan tumbuh (Surahman et al. 2009). Sementara itu, karakterisasi menggunakan marka molekuler dapat memberikan hasil yang lebih cepat, efektif, dan akurat dibanding dengan karakterisasi berdasarkan karakter morfologis. Karakterisasi dengan menggunakan marka molekuler dapat dilakukan pada stadium awal tanaman, tidak bersifat merusak tanaman, dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Santoso et al. 2006), serta memberikan hasil yang lebih presisi (Risliawati et al. 2015). Karakterisasi molekuler dapat melengkapi karakterisasi morfologis dalam analisis keragaman genetik.

Marka molekuler digunakan untuk menganalisis hubungan kekerabatan antarindividu (analisis filogenetik), baik dalam spesies maupun antarspesies tanaman, dalam rangka perbaikan sifat ataupun karakter suatu individu tanaman. Untuk mengetahui hubungan kekerabatan antarindividu tanaman, digunakan data frekuensi alel atau dengan matriks ketidaksamaan. Marka *simple sequence repeat* (SSR) merupakan salah satu marka molekuler yang bersifat kodominan dan dapat mendeteksi frekuensi serta variasi alel yang tinggi (Chiang et al. 2012; Surapaneni et al. 2013) sehingga banyak dipilih untuk penelitian studi kekerabatan. Penggunaan marka SSR untuk menganalisis keragaman genetik telah banyak dilakukan sebelumnya, antara lain pada tanaman cabai (Carvalho et al. 2015; Jiaowen et al. 2016; Nicolai et al. 2013), tomat (Meng et al. 2010), kentang (Elizangela et al. 2010; Hong dan Huachun 2014), kelapa sawit (Tasma et al. 2013), jarak pagar (Saptadi et al. 2017), dan mangga (Tasliyah et al. 2013; Zainudin et al. 2010). Marka SSR juga telah digunakan dalam mengidentifikasi keragaman genetik kedelai introduksi di Asia terutama Cina, seperti analisis keragaman genetik 1.383 aksesori asal Cina dengan 60 marka SSR yang telah dilakukan oleh Wang et al. (2008) dan 195 aksesori asal Cina dengan 10 marka SSR oleh Wang et al. (2015).

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis keragaman genotipik dan fenotipik 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina menggunakan 15 marka SSR. Informasi keragaman genotipik dan fenotipik kedelai introduksi asal Cina berdasarkan marka SSR tersebut dapat menjadi dasar awal dalam pemilihan tetua persilangan kedelai.

BAHAN DAN METODE

Materi Genetik

Materi genetik yang digunakan dalam penelitian ini meliputi 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina (Tabel 1 dan 2) yang telah diketahui informasi deskripsi karakter morfologis kualitatif dan kuantitatifnya berdasarkan basis data *Germplasm Resources Information Network* (GRIN), *United States Department of Agriculture* (USDA) (www.ars-grin.gov). Empat puluh delapan aksesori kedelai tersebut terdiri atas 4 aksesori yang tidak diketahui asal provinsinya, 5 aksesori berasal dari Provinsi Gansu, 3

aksesori asal Provinsi Hebei, 4 aksesori asal Provinsi Heilongjiang, 4 aksesori asal Provinsi Henan, 3 aksesori asal Provinsi Jiangsu, 1 aksesori asal Provinsi Jiangxi, 5 aksesori asal Provinsi Jilin, 4 aksesori asal Provinsi Liaoning, 3 aksesori asal Provinsi Ningxia, 4 aksesori asal Provinsi Shaanxi, 6 aksesori asal Provinsi Shandong, dan 2 aksesori asal Provinsi Sichuan.

Seluruh aksesori kedelai introduksi asal Cina tersebut ditanam di Kebun Percobaan Muara, Bogor, Jawa Barat sebagai sumber materi genetik untuk dipanen daun muda dan sehat untuk diisolasi DNA genomiknya. Kegiatan analisis molekuler dilaksanakan pada bulan Januari hingga Maret 2016 di Labora-

Tabel 1. Karakter morfologis kualitatif 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina yang digunakan dalam penelitian (www.ars-grin.gov).

Kode aksesori	Nama aksesori	Asal	Tipe pertumbuhan	Warna bunga	Warna hilum	Warna polong masak	Warna trikoma	Warna kulit biji
PI 092573	7768	Jilin	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Kuning	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 079737	N2A	Heilongjiang	<i>Determinate</i>	Ungu	Hitam	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 088302-2	5691	Liaoning	<i>Indeterminate</i>	Putih	Hitam	Cokelat tua	Kuning muda	Kuning
PI 602502-A	Xiong Yue Xiao Huang Dou	Cina	<i>Determinate</i>	Putih	Kuning	Hitam	Abu-abu	Kuning
PI 587991	Liu Yue Huang	Sichuan	<i>Determinate</i>	Ungu	Hitam kusam	Cokelat muda	Abu-abu	Kuning
PI 567601	Xiao Tie Jiao	Shandong	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Kekuningan	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 587977	Xiao Huang Dou	Sichuan	<i>Semi-determinate</i>	Ungu	Cokelat	Cokelat muda	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 567361	Lu Fang Huang Dou	Ningxia	<i>Indeterminate</i>	Putih	Cokelat	Cokelat muda	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 567359	Hua Mei Dou	Ningxia	<i>Indeterminate</i>	Putih	Cokelat	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Cokelat
PI 072232	Wong Tau	Jiangxi	<i>Determinate</i>	Ungu tua	Hitam	Cokelat muda	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 578499A	Lu Yue Bai	Cina	<i>Determinate</i>	Ungu	Cokelat	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Hijau
PI 407721	Muim Bao Jing	Heilongjiang	<i>Indeterminate</i>	Putih	Kuning muda	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 291312	<i>Unknown</i>	Heilongjiang	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Kuning	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 070241	8079	Jilin	<i>Determinate</i>	Putih	Kekuningan	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 291272	<i>Unknown</i>	Heilongjiang	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Hitam	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Hitam
PI 069501	6946	Jilin	<i>Indeterminate</i>	Putih	Kekuningan	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 069992	6790	Jilin	<i>Indeterminate</i>	Putih	Kekuningan	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 072341	8969	Liaoning	<i>Determinate</i>	Ungu	Hitam	Cokelat muda	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 092734	7929	Jilin	<i>Indeterminate</i>	Putih	Kekuningan	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 093559	Paimei Tou	Liaoning	<i>Determinate</i>	Ungu	Kuning	Cokelat muda	Abu-abu	Kuning
PI 458506	Feng Di Huang	Liaoning	<i>Determinate</i>	Putih	Kuning	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 567302	He Se Huang Dou	Gansu	<i>Indeterminate</i>	Putih	Cokelat kemerahan	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Cokelat kemerahan
PI 567525	Cao Ging Huang Dou	Shandong	<i>Semi-determinate</i>	Putih	Hitam muda	Cokelat muda	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 567537	Gu Li Hun	Shandong	<i>Semi-determinate</i>	Putih	Kekuningan	Hitam	Abu-abu	Kuning
PI 567504	Tu Er Dun	Hebei	<i>Determinate</i>	Ungu	Kekuningan	Hitam	Abu-abu	Kuning
PI 171429	An Yang Black	Henan	<i>Determinate</i>	Putih	Hitam	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Hitam
PI 430595	58-161	Cina	<i>Determinate</i>	Ungu	Kekuningan	Cokelat muda	Abu-abu	Kuning
PI 430620	Hou Tzu Mao	Cina	<i>Indeterminate</i>	Putih	Cokelat	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Hijau
PI 567294	Bian Huang Dou	Gansu	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Cokelat kehitaman	Cokelat tua	Kuning kecokelatan muda	Kuning
PI 567318	Hua Lai Dou	Gansu	<i>Determinate</i>	Putih	Cokelat	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Cokelat kehijauan
PI 567368	Xi He Huang Dou	Ningxia	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Cokelat kehitaman	Cokelat tua	Kuning kecokelatan muda	Kuning
PI 567476	Yu Ci Huang	Shaanxi	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Cokelat	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 567488A	Di Liu Huang Dou No. 2	Hebei	<i>Indeterminate</i>	Putih	Kemerahan	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 567490	Er Huang Dou	Hebei	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Cokelat	Cokelat tua	Kuning kecokelatan muda	Kuning
PI 567571	Ping Ding Huang	Shandong	<i>Semi-determinate</i>	Putih	Cokelat kehitaman	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 567636	Min Quan Ba Yue Zha	Henan	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Cokelat	Cokelat tua	Kuning kecokelatan muda	Kuning
PI 567743	Gan Yu Zhe Wang Da Hong Mao Chun Do	Jiangsu	<i>Indeterminate</i>	Putih	Hitam	Cokelat muda	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 567769	Tong Shan Da Mian Tao	Jiangsu	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Kekuningan	Cokelat muda	Abu-abu	Kuning
PI 602991	Ni Jiao Qi Da Hei Dou	Shandong	<i>Determinate</i>	Putih	Hitam	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Hitam
PI 567298	Chan Yao Dou	Gansu	<i>Determinate</i>	Ungu	Cokelat kehitaman	Hitam	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 567343	Ma Huang Dou	Gansu	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Cokelat	Hitam	Kuning kecokelatan muda	Cokelat
PI 567388	Huang Huai Dou	Shaanxi	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Cokelat kehijauan	Hitam	Kuning kecokelatan	Cokelat kehijauan
PI 567402	Shi Yue Han	Shaanxi	<i>Determinate</i>	Putih	Kekuningan	Cokelat muda	Abu-abu	Kuning
PI 567439	Hong Jia Huang Dou	Shaanxi	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Kekuningan	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 567634	Mi Yang Niu Mao Huang	Henan	<i>Determinate</i>	Putih	Cokelat	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 567657	Tang He Huang Dou	Henan	<i>Determinate</i>	Putih	Cokelat	Cokelat tua	Kuning kecokelatan	Kuning
PI 567736	Dong Hai Bai Ta Me Jia Cao	Jiangsu	<i>Determinate</i>	Putih	Kekuningan	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning
PI 567589	Wan Dou Li Da Dou	Shandong	<i>Indeterminate</i>	Ungu	Kekuningan	Cokelat tua	Abu-abu	Kuning

**Determinate*: tanaman berbunga hanya sekali dalam satu periode dan pertumbuhan pucuk batang terhenti saat tanaman telah berbunga; *indeterminate*: tanaman dapat berbunga lebih dari satu kali dalam satu periode dan pertumbuhan pucuk batang tidak terhenti, meskipun tanaman telah berbunga; *semi-determinate*: hasil persilangan dengan tipe pertumbuhan mirip *determinate* (Lumbantobing et al. 2013).

Tabel 2. Karakter morfologis kuantitatif 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina yang digunakan dalam penelitian (www.ars-grin.gov).

Kode aksesori	Nama aksesori	Asal	Tinggi tanaman (cm)	Bobot 100 butir (g)	Hasil biji (t/ha)
PI 092573	7768	Jilin	086	28	1,57
PI 079737	N2A	Heilongjiang	074	23,2	1,72
PI 088302-2	5691	Liaoning	122	27,2	1,87
PI 602502A	Xiong yue xiao huang dou	Cina	097	21	1,13
PI 587991	Liu yue huang	Sichuan	073	8,7	1,06
PI 567601	Xiao tie jiao	Shandong	168	24,9	0,94
PI 587977	Xiao huang dou	Sichuan	061	5,5	1,17
PI 567361	Lu fang huang dou	Ningxia	124	18,2	1,08
PI 567359	Hua mei dou	Ningxia	132	23,8	1,69
PI 072232	Wong tau	Jiangxi	089	22,1	1,25
PI 578499A	Lu yue bai	Cina	068	10,3	1,29
PI 407721	Muim bao jing	Heilongjiang	085	32,5	2,3
PI 291312	Unknown	Heilongjiang	071	22,4	1,68
PI 070241	8079	Jilin	071	22,5	1,23
PI 291272	Unknown	Heilongjiang	084	29	1,16
PI 069501	6946	Jilin	104	26	1,89
PI 069992	6790	Jilin	086	25,6	1,92
PI 072341	8969	Liaoning	071	28,9	1,43
PI 092734	7929	Jilin	086	26,6	1,78
PI 093559	Paimei tou	Liaoning	071	26,4	1,67
PI 458506	Feng di huang	Liaoning	058	26,1	1,7
PI 567302	He se huang dou	Gansu	078	28,6	1,3
PI 567525	Cao qing huang dou	Shandong	088	20,8	1,14
PI 567537	Gu li hun	Shandong	094	19,1	1,3
PI 567504	Tu er dun	Hebei	070	33,4	2,06
PI 171429	An yang black	Henan	140	22,1	0,99
PI 430595	58-161	Cina	059	18,1	1,92
PI 430620	Hou tzu mao	Cina	107	16	1,08
PI 567294	Bian huang dou	Gansu	072	14,6	0,79
PI 567318	Hua lai dou	Gansu	076	14,8	0,57
PI 567368	Xi he huang dou	Ningxia	117	16,6	1,18
PI 567476	Yu ci huang	Shaanxi	116	18,6	1,08
PI 567488A	Di liu huang dou No. 2	Hebei	104	24,4	1,33
PI 567490	Er huang dou	Hebei	145	15,6	0,82
PI 567571	Ping ding huang	Shandong	104	25,5	1,5
PI 567636	Min quan ba yue zha	Henan	123	17,6	0,8
PI 567743	Gan yu zhe wang da hong mao chun do	Jiangsu	118	27,6	1,43
PI 567769	Tong shan da mian tao	Jiangsu	104	15,7	1,48
PI 602991	Ni jiao qi da hei dou	Shandong	072	18,8	1,51
PI 567298	Chan yao dou	Gansu	074	17,4	0,89
PI 567343	Ma huang dou	Gansu	107	14,7	0,64
PI 567388	Huang huai dou	Shaanxi	185	14,6	0,49
PI 567402	Shi yue han	Shaanxi	102	16,9	0,9
PI 567439	Hong jia huang dou	Shaanxi	100	10,1	1,24
PI 567634	Mi yang niu mao huang	Henan	077	19,8	1,11
PI 567657	Tang he huang dou	Henan	088	23,5	1,17
PI 567736	Dong hai bai ta me jia cao	Jiangsu	092	20,2	1,62
PI 567589	Wan dou li da dou	Shandong	080	13,1	1,39

torium Biologi Molekuler, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian.

Ekstraksi, Uji Kualitas, dan Uji Kuantitas DNA

Sebanyak 0,1 g potongan daun kedelai digerus menjadi bubuk dan diisolasi DNA-nya menggunakan bufer *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB) mengacu pada metode Doyle dan Doyle (1990) yang dimodifikasi dengan penambahan 2% (w/v) PVP. Pelet DNA yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan cara divakum menggunakan *SpeedVac™ Concentrator* (Thermo Fisher Scientific, USA) untuk

mengeringkan sisa-sisa etanol dengan tingkat pengeringan medium. Pelet DNA yang telah kering kemudian dilarutkan dalam 100 μ l larutan TE (Tris 10 mM [pH 8,0] dan EDTA 1 mM) yang ditambah RNase (10 mg/ml) sebanyak 2 μ l. Larutan stok DNA tersebut kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C dan disimpan pada suhu -20°C hingga siap digunakan.

Selanjutnya, dilakukan uji kuantitatif dan kualitatif larutan stok DNA untuk mengetahui konsentrasi DNA beserta tingkat kemurniannya. Uji kuantitatif larutan stok DNA dilakukan dengan menggunakan *NanoDrop™ 2000 Spectrophotometer* (ThermoFisherScientific, USA). Uji kualitatif larutan

stok DNA dilakukan dengan teknik elektroforesis pada gel agarosa dengan konsentrasi 1% pada tangki berisi bufer *Tris-acetate-EDTA* (TAE) 1× dengan tegangan alat 90 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesis kemudian diamati di bawah sinar UV di dalam *UV Transilluminator* (UVP, UK).

Analisis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan Elektroforesis

Analisis sampel DNA kedelai dilakukan dengan menggunakan 15 marka SSR (Tabel 3). DNA setiap sampel diamplifikasi dalam total reaksi 10 µl mengandung *template* DNA 10 ng sebanyak 1 µl, enzim Taq polimerase DNA *Kapa2G Fast ReadyMix* (Kapa Biosystems, USA) sebanyak 5 µl, primer *forward* dan *reverse* dengan konsentrasi 10 µM masing-masing sebanyak 0,5 µl, dan 3 µl H_2O steril. Reaksi PCR dilakukan di dalam mesin PCR *T1 Thermocycler* (Biometra, Germany) dengan profil PCR sebagai berikut: denaturasi awal dilakukan pada suhu 95°C selama 3 menit, diikuti sebanyak 35 siklus proses denaturasi pada suhu 95°C selama 15 detik, tahap penempelan primer (*annealing*) pada suhu 52°C selama 15 detik, dan tahap perpanjangan basa (*elongation*) pada suhu 72°C selama 15 detik. Reaksi PCR diakhiri dengan tahap akhir perpanjangan basa (*final extension*) pada suhu 72°C selama 1 menit. Hasil PCR kemudian di-

elektroforesis pada gel poliakrilamida 8% untuk analisis lebih lanjut.

Analisis Data Molekuler

Analisis komponen utama merupakan teknik untuk mengetahui seberapa besar suatu karakter berkontribusi terhadap keragaman sehingga hasilnya dapat digunakan untuk mengidentifikasi karakter yang menjadi ciri suatu akses yang diuji (Afuape et al. 2011). Langkah awal dalam penentuan komponen utama adalah mendapatkan nilai akar dan vektor penciri dari matriks, yaitu akar penciri dari matriks akan mewakili keragaman komponen utama dan unsur-unsur dari akar penciri mewakili korelasi antara komponen utama dan peubah asal. Peubah asal dengan koefisien yang lebih besar nilainya pada suatu komponen utama, memiliki kontribusi besar pada komponen utama tersebut, sedangkan analisis koordinat utama menggambarkan posisi relatif individu masing-masing. Data kodominan dihitung untuk mendapatkan nilai jarak genetik antarindividu (Chae dan Warde 2006). Berdasarkan data morfologi kualitatif, dilakukan analisis komponen utama (PCA) dan analisis koordinat utama (PCoA) dengan menggunakan *software* XLSTAT. Sebelum dianalisis, seluruh data deskripsi morfologi kualitatif (Tabel 1) dikonversi terlebih dahulu menjadi data kuantitatif berdasarkan penentuan nilai skor tertentu (Tabel 4).

Tabel 3. Daftar marka SSR dan sekuennya yang digunakan dalam penelitian ini.

Kode primer	Karakter terkait	Sekuen	Referensi
GmF35H	Warna bunga	F-TAGAAAGCACCCCTTCAACAC R-TTTATGTAGCCACAGCCACA	Ibarra et al. (2013)
SoyF3H	Warna <i>pubescence</i>	F-GTCATAAAATATCATTATTATATCTATTA R-CACTCCCAAAAGCTTTTAAGTGT	Ibarra et al. (2013)
Sat_286	Tipe pertumbuhan	F-GCGTTGCTTGCTAAGTAGTGTTTTTAATCCT R-GCGTCTCCCATCATGCAACTTCAATA	Ibarra et al. (2013)
GMES1173	Warna polong	F-TATGGGACATCAAAGCCACA R-CGCACTGCCATATGAAGAGA	Ibarra et al. (2013)
Satt288	Ketahanan karat daun	F-GCGGGGTGATTAGTGTTTGACACCT R-GCGCTTATAATTAAGAGCAAAAGA	Widaningsih et al. (2014)
Satt125	Warna kulit biji	F-CAAATAAAAACATATACCTCTTGT R-TGCCTTACTCTACTCTGTTTC	Widaningsih et al. (2014)
Satt100	Warna kulit biji	F-ACCTCATTTTGGCATAAA R-TTGGAACAAGTAATAATAACA	Widaningsih et al. (2014)
Satt333	Warna kulit biji	F-GCGAATGGTTTTGCTGGAAAGTA R-GCGCAACGACATTTTCACGAAGTT	Widaningsih et al. (2014)
GMES0216	Universal	F-CCGGGACAGGGTTTCTAACT R-CCGAAGAAGACGACGAAATC	Hisano et al. (2007)
GMES2225	Universal	F-CCTCCTAATGAGGCCAATGA R-ATTATTCCGGCCAAACTTCC	Hisano et al. (2007)
GAAT47	Universal	F-TGTCCATGTTTAGTGATGAGGC R-CTGTTGTGATCGGAAGGTGTAG	Dawei et al. (2012)
GMES1604	Universal	F-GTTGCAGGCACACTGGAGTA R-CTCAGCCTTCTTCCCTGTTG	Hisano et al. (2007)
GATT43	Universal	F-AAAATCGTATTCTTCTTCCCA R-GATTGGGTAATTGTTGGAGAAA	Dawei et al. (2012)
GMES1424	Universal	F-TCTTCGGTGTTGCAATCAAG R-ACAACCTTCAAAGTGGCTGG	Hisano et al. (2007)
GMES3515	Universal	F-ATGGTGTGCAAGAACCTTCC R-TCCGGAAGAGATTGAGTGTG	Hisano et al. (2007)

Tabel 4. Skoring karakter morfologis kualitatif 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina (UPOV 1998).

Karakter morfologis kualitatif	Skor
Tipe pertumbuhan	1 = <i>determinate</i> , 2 = <i>indeterminate</i> , 3 = <i>semi-determinate</i>
Warna bunga	1 = putih, 2 = ungu, 3 = ungu tua
Warna pusar biji	1 = kuning, 2 = hitam, 3 = hitam muda, 4 = hitam kusam, 5 = kekuningan, 6 = kuning muda, 7 = cokelat, 8 = cokelat kemerahan, 9 = kemerahan, 10 = cokelat kehitaman, 11 = cokelat kehijauan
Warna polong masak	1 = hitam, 2 = cokelat tua, 3 = cokelat muda
Warna trikoma	1 = abu-abu, 2 = kuning muda, 3 = kuning kecokelatan, 4 = kuning kecokelatan muda
Warna kulit biji	1 = cokelat, 2 = kuning, 3 = hijau, 4 = hitam, 5 = cokelat kemerahan, 6 = cokelat kehijauan

Data molekuler dianalisis berdasarkan metode skoring terhadap pita DNA yang muncul pada hasil elektroforesis pada gel poliakrilamida 8%. Pita-pita DNA yang tampak pada gel dianggap sebagai satu alel. Pita DNA dengan laju migrasi sama diasumsikan sebagai lokus yang homolog. Pada laju migrasi yang sama, setiap pita DNA yang tampak diberi skor 1, sedangkan pita yang tidak tampak diberi skor 0 sehingga hasil akhir dari skoring pita DNA berupa data biner. Skoring posisi pita DNA dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak (*software*) *Gel Analyzer*. Data hasil skoring selanjutnya dianalisis dengan menggunakan program *Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested-Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic* (SAHN-UPGMA) pada perangkat lunak NTSYS versi 2.1. (Rohlf 2000). Hasil analisis disajikan dalam bentuk dendrogram, selanjutnya data hasil skoring juga dianalisis menggunakan perangkat lunak *PowerMarker 3.25* (Liu dan Muse 2005) untuk statistik nilai frekuensi alel utama, diversitas genetik, heterozigositas, dan nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) yang dihasilkan oleh marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini. Nilai PIC diperoleh dari perhitungan yang didasarkan pada formulasi Hildebrand et al. (1992), yaitu sebagai berikut:

$$PIC_j = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

Nilai PIC ke-*j* adalah nilai PIC pada marka ke-*j*, *P_i* merupakan frekuensi alel ke-*i* pada marka ke-*j*, dan *n* merupakan jumlah alel pada marka ke-*j*.

Analisis Asosiasi antara Data Karakter Morfologis dan Molekuler

Data molekuler yang diperoleh menggunakan marka SSR diasosiasikan dengan data karakter morfologis menggunakan prosedur *general linear model* (GLM) pada program Tassel 3.0 (Bradbury et al. 2007). Lokus dan alel SSR dengan nilai *p* marka yang signifikan pada taraf 5% (*P value* <0,05) diasumsikan berasosiasi dengan karakter morfologis aksesori-aksesori kedelai introduksi dari Cina.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter Morfologis Kualitatif dari Basis Data

Karakter morfologis kualitatif 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina cukup beragam, baik dari segi karakter tipe pertumbuhan, warna bunga, warna pusar biji, warna polong, warna trikoma maupun warna kulit biji (Tabel 1). Berdasarkan tipe pertumbuhan batang, proporsi aksesori dengan tipe pertumbuhan batang tanaman *indeterminate* lebih besar dibanding dengan aksesori yang *determinate*. Hanya sebagian kecil aksesori bertipe *semi-determinate*, yaitu tiga aksesori yang berasal dari Provinsi Shandong dan satu aksesori asal Provinsi Sichuan. Proporsi karakter warna bunga 48 aksesori berimbang, yaitu 24 aksesori memiliki bunga berwarna putih dan 23 aksesori lainnya memiliki bunga berwarna ungu. Hanya satu aksesori asal Provinsi Jianxi yang memiliki bunga berwarna ungu tua. Karakter warna polong saat masak, warna trikoma, dan warna kulit biji 48 aksesori tersebut juga sangat beragam dan tidak spesifik menurut asal provinsinya. Hasil penelitian Corte et al. (2010) menunjukkan bahwa karakter warna, baik pada polong saat masak, trikoma, bunga maupun kulit biji pada tanaman kacang-kacangan secara umum menggambarkan potensi tanaman yang secara genetik berkontribusi dalam penentuan keragaman penampilan tanaman secara morfologis.

Analisis komponen utama dilakukan untuk mengetahui karakter yang berkontribusi terhadap keragaman genetik pada suatu populasi. Hasil analisis komponen utama pada penelitian ini telah mereproduksi karakter morfologis kualitatif yang diamati menjadi dua komponen utama yang memiliki nilai akar penciri atau *eigen value* >1 dan mampu menjelaskan keragaman aksesori kedelai introduksi asal Cina sebesar 46,92% (Gambar 1, Tabel 5). Komponen utama pertama dengan nilai *eigen value* 1,91 berkontribusi terhadap 27,35% keragaman total, sedangkan komponen utama kedua dengan *eigen value* sebesar 1,37 berkontribusi terhadap 19,57% keragaman total di antara 48 aksesori kedelai introduksi yang diuji. Haydar et al. (2007) menyatakan bahwa karakter yang berkontribusi maksimum terhadap ke-

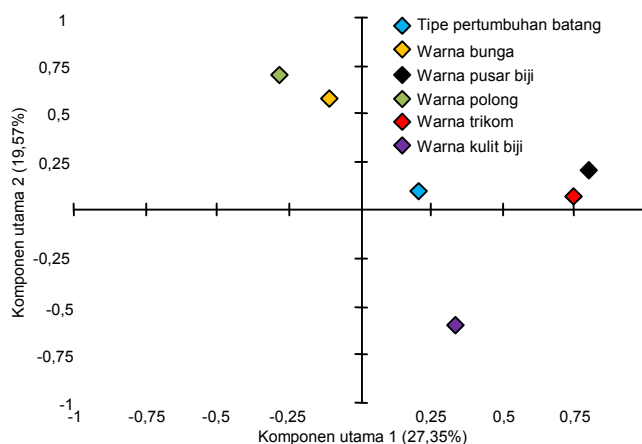
ragaman materi genetik adalah karakter yang memiliki nilai vektor penciri terbesar dan bernilai positif. Pada komponen utama pertama, karakter yang berkontribusi besar terhadap keragaman adalah warna pusa biji dan warna trikoma, sedangkan karakter warna bunga dan warna polong berkontribusi besar terhadap keragaman komponen utama kedua (Tabel 5).

Hasil penelitian ini mendukung laporan sebelumnya, yaitu analisis komponen utama penting dalam mempelajari tingkat keragaman genetik pada berbagai karakter morfologis (Adalgisa et al. 2014; Iqbal et al. 2008; Liu et al. 2011; Malek et al. 2014; Yan et al. 2011). Malek et al. (2014) dalam penelitiannya memperoleh empat komponen utama dengan keragaman sebesar 99,9% dari total keragaman, sedangkan Adalgisa et al. (2014) memperoleh dua komponen utama dengan keragaman sebesar 29% dari total keragaman di antara akses yang diuji.

Posisi relatif 48 akses kedelai introduksi pada ruang dua dimensi (Gambar 2) yang diperoleh dari hasil analisis komponen utama telah memberikan peluang memperketat kegiatan seleksi tanaman. Akses yang menggerombol dalam kelompok yang sama dapat dijadikan sebagai tetua persilangan agar diperoleh hasil segregasi pada lingkungan tertentu, sedangkan akses yang berasal dari kelompok berbeda (tidak menggerombol) dapat pula dijadikan sebagai tetua persilangan guna memperluas tingkat keragaman genetik (Kumar et al. 2015; Rahman et al. 2011; Salimi et al. 2012).

Secara umum, berdasarkan hasil analisis koordinat utama, seluruh akses kedelai introduksi asal Cina cenderung menyebar dan tumpang tindih ke dalam empat kuadran dan mengelompok menjadi tiga kelompok besar. Kelompok pertama terdiri atas 26 akses, kelompok kedua terdiri atas 13 akses, dan 9 akses lainnya mengelompok pada kelompok ketiga. Akses-akses yang terletak pada satu titik koordinat yang berdekatan menunjukkan tingkat keragaman yang rendah (Mahbub et al. 2016). Dengan demikian, analisis koordinat utama (*Principle Coordinate Analysis* PCoA) ini sangat berguna untuk menganalisis keragaman genetik antarakses tanaman (Shankar et al. 2009). Analisis PcoA merupakan analisis yang digunakan untuk mengetahui kedekatan antarindividu berdasarkan kemiripan karakter melalui penyederhanaan dimensi (Kristantini et al. 2014). Analisis PCoA untuk studi keragaman genetik kedelai berdasarkan marka SSR telah dilakukan pula sebelumnya oleh Zhang et al. (2013) yang menganalisis keragaman genetik 48 akses kedelai introduksi dari Cina, Jepang, dan AS, serta Mahbub et al. (2016) yang

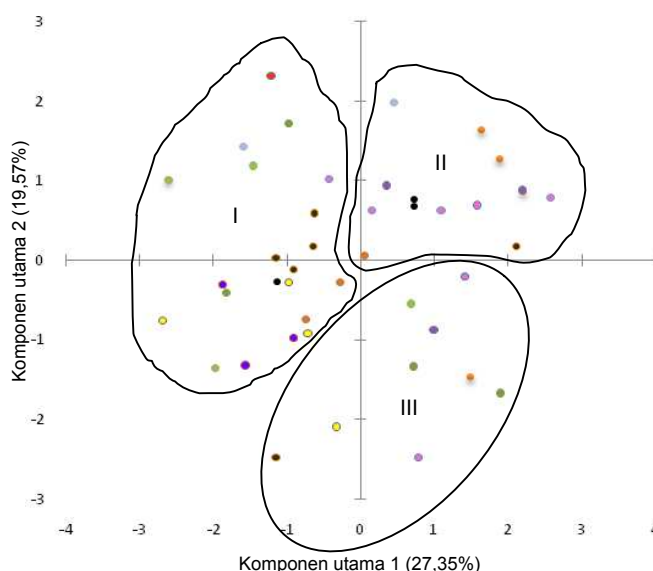
menganalisis keragaman morfofisiologis 28 genotipe kedelai dari beberapa negara.



Gambar 1. Pola distribusi keragaman karakter morfologis kualitatif hasil analisis komponen utama 48 akses kedelai introduksi asal Cina.

Tabel 5. Analisis komponen utama karakter morfologis kualitatif 48 akses kedelai introduksi asal Cina.

Variabel	Komponen utama I	Komponen utama 2
Tipe pertumbuhan batang	00,14	00,08
Warna bunga	-0,07	00,49
Warna pusa biji	00,57	00,17
Warna polong	-0,20	00,60
Warna trikoma	00,53	00,05
Warna kulit biji	00,24	-0,51
<i>Eigen value</i>	01,91	01,37
Keragaman (%)	27,35	19,57
Kumulatif (%)	27,35	46,92



Gambar 2. Posisi relatif 48 akses kedelai introduksi asal Cina berdasarkan karakter morfologis pada hasil analisis komponen utama (perbedaan warna menggambarkan asal provinsi yang berbeda).

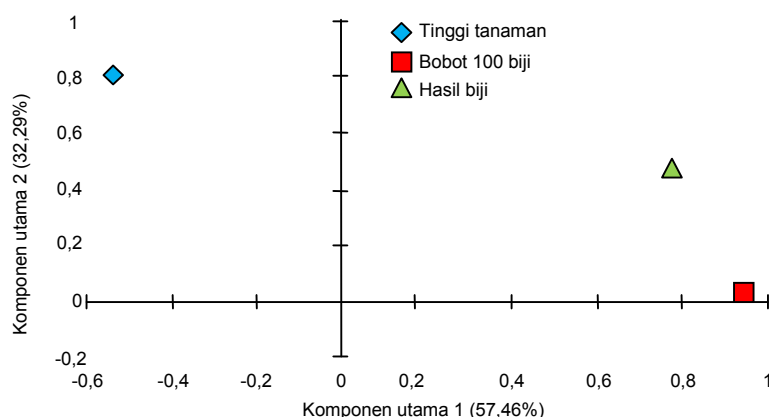
Karakter Morfologis Kuantitatif dari Basis Data

Hasil analisis deskriptif karakter morfologis kuantitatif 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina ditampilkan pada Tabel 6. Karakter yang dianalisis meliputi tinggi tanaman, bobot 100 biji, dan hasil biji per hektar. Karakter tinggi tanaman aksesori kedelai sangat beragam, yaitu 58–185 cm dengan rerata 95,27 cm. Di antara 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina tersebut terdapat 17 aksesori memiliki tinggi tanaman kurang dari 80 cm, sedangkan 31 aksesori lainnya memiliki tinggi tanaman lebih dari 80 cm. Menurut Suyanto (2016), pada umumnya petani kedelai di Indonesia lebih menyukai tanaman kedelai yang memiliki tinggi tanaman kurang dari 80 cm karena terdapat kecenderungan tanaman kedelai akan lebih tahan rebah.

Rentang karakter ukuran bobot 100 biji juga tergolong tinggi, yaitu 5,50–33,40 g dengan rerata 21,24 g. Berdasarkan pengelompokan ukuran biji kedelai berdasarkan bobot 100 biji yang dideskripsikan oleh Adie (2007), 2 aksesori kedelai termasuk dalam kelompok biji kecil (<10 g/100 biji), 3 aksesori berukuran biji sedang (10–14 g/100 biji), 43 aksesori lainnya termasuk ke

dalam kelompok biji besar dengan ukuran biji lebih dari 14 g/100 biji. Hasil biji 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina adalah 0,49–2,30 t/ha dengan rerata 1,31 t/ha. Terdapat 2 aksesori yang memiliki hasil biji lebih dari 2 t/ha yang sangat berpotensi untuk dikembangkan di Indonesia. Hasil biji dan produktivitas tinggi masih menjadi tujuan utama pemuliaan kedelai di Indonesia (Suhartina et al. 2016). Oleh karena itu, penyediaan materi genetik kedelai sebagai sumber gen kedelai berdaya hasil dan produktivitas tinggi masih menduduki posisi penting dalam karakterisasi plasma nutfah kedelai.

Analisis komponen utama telah dilakukan pula untuk mengetahui karakter morfologis kuantitatif yang berkontribusi besar terhadap keragaman genetik pada suatu populasi. Hasil analisis komponen utama pada penelitian ini telah mereduksi karakter morfologis kuantitatif yang diamati menjadi dua komponen utama, yang memiliki nilai akar penciri atau *eigen value* >1 dan mampu menjelaskan keragaman aksesori kedelai introduksi asal Cina sebesar 89,75% (Gambar 3, Tabel 7). Komponen utama pertama dengan nilai *eigen value* 1,72 berkontribusi terhadap



Gambar 3. Pola distribusi keragaman karakter morfologi kuantitatif hasil analisis komponen utama 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina.

Tabel 6. Hasil analisis statistik deskriptif 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina.

Parameter	Tinggi tanaman (cm)	Bobot 100 Biji (g)	Hasil biji (t/ha)
Rentang	58–185	5,50–33,40	0,49–2,30
Rerata	95,27	21,24	1,31
Simpangan baku	27,49	5,89	0,40

Tabel 7. Analisis komponen utama karakter morfologis kuantitatif 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina.

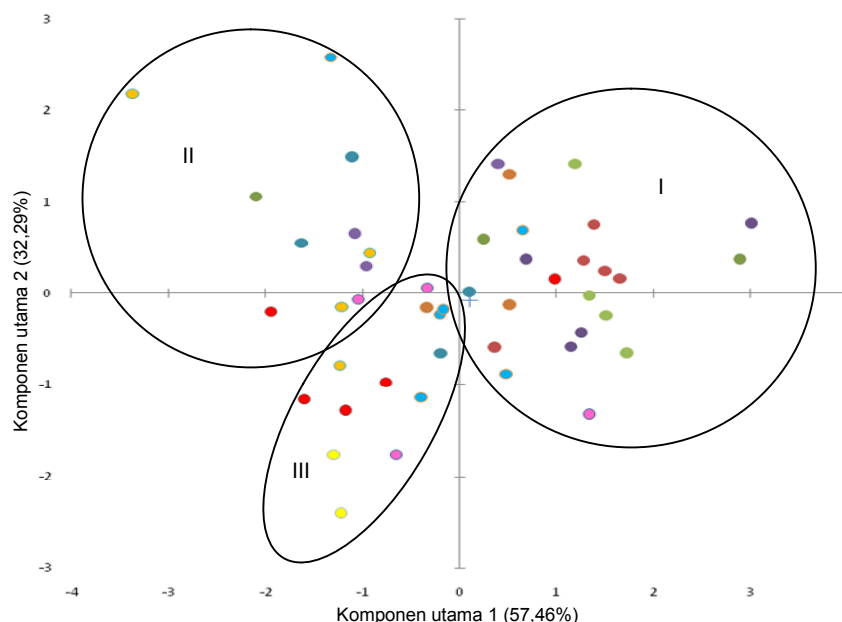
Variabel	Komponen utama I	Komponen utama 2
Tinggi tanaman	0,95	0,03
Bobot 100 biji	-0,46	0,72
Hasil biji	0,03	0,89
<i>Eigen value</i>	1,72	0,96
Keragaman (%)	57,46	32,29
Kumulatif (%)	57,46	89,75

57,46% keragaman total, sedangkan komponen utama kedua dengan *eigen value* sebesar 0,96 berkontribusi terhadap 32,29% keragaman total di antara 48 aksesori kedelai introduksi yang diuji. Karakter tinggi tanaman berkontribusi besar terhadap keragaman pada komponen utama pertama, sedangkan karakter bobot 100 biji dan hasil biji berkontribusi besar terhadap keragaman pada komponen utama kedua (Tabel 7).

Posisi relatif 48 aksesori kedelai introduksi pada ruang dua dimensi (Gambar 4) berdasarkan karakter morfologis kuantitatif hasil analisis komponen utama telah pula memberikan peluang memperketat kegiatan seleksi tanaman. Secara umum, berdasarkan hasil analisis koordinat utama, seluruh aksesori kedelai introduksi asal Cina cenderung menyebar dan tumpang

tindih ke dalam empat kuadran dan mengelompok menjadi tiga kelompok besar. Kelompok pertama terdiri atas 28 aksesori, kelompok kedua terdiri atas 11 aksesori, dan 9 aksesori lainnya mengelompok pada kelompok ketiga. Aksesori-aksesori yang terletak pada satu titik koordinat yang berdekatan menunjukkan tingkat keragaman yang rendah (Mahbub et al. 2016).

Untuk mengetahui apakah terdapat korelasi hasil biji dengan karakter morfologis kualitatif dan kuantitatif, dilakukan analisis korelasi. Hasil analisis korelasi antarkarakter memiliki arti penting dalam efektivitas kegiatan seleksi. Nasir (2001) mengemukakan bahwa seleksi akan efektif jika terdapat hubungan erat antarkarakter yang diinginkan. Hasil biji pada kedelai merupakan karakter kompleks yang tentunya dipengaruhi oleh berbagai komponen hasil dan



Gambar 4 Posisi relatif 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina berdasarkan karakter morfologis kuantitatif pada hasil analisis komponen utama (perbedaan warna menggambarkan asal provinsi yang berbeda).

Tabel 8. Hasil analisis korelasi karakter morfologis kualitatif dan kuantitatif dengan hasil biji 48 kedelai introduksi asal Cina.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
1								
-0,383	1							
0,315	-0,029	1						
-0,035	-0,192	-0,074	1					
0,275	-0,411	0,287	-0,010	1				
-0,110	-0,083	-0,050	0,250	-0,193	1			
0,263	-0,487	0,140	0,126	0,351	-0,087	1		
0,109	-0,264	-0,150	-0,108	-0,013	-0,253	0,312	1	
-0,034	0,595	-0,064	-0,299	-0,368	-0,176	-0,204	-0,105	1

1 = tinggi tanaman, 2 = bobot 100 butir, 3 = tipe pertumbuhan, 4 = warna bunga, 5 = warna pusar biji, 6 = warna polong masak, 7 = warna trikom, 8 = warna kulit biji, 9 = produktivitas. Angka bercetak tebal menunjukkan korelasi berbeda nyata pada taraf 5%.

lingkungan tumbuh. Berdasarkan Tabel 8, diketahui bahwa hanya karakter kuantitatif bobot 100 butir biji yang berkorelasi positif nyata dengan hasil biji per hektar. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Iqbal et al. (2003) yang menyimpulkan bahwa bobot 100 biji merupakan komponen utama hasil kedelai dan berpengaruh terhadap hasil biji kedelai per hektarnya.

Karakterisasi Molekuler Berdasarkan Marka SSR

Profil marka SSR

Berdasarkan hasil analisis, seluruh marka SSR mampu memperlihatkan polimorfisme pada aksesi-aksesi kedelai introduksi asal Cina yang diuji (Gambar 5). Sebanyak 226 alel terdeteksi berdasarkan 15 marka SSR yang digunakan. Ringkasan statistik analisis polimorfisme yang dihasilkan oleh marka SSR ditampilkan pada Tabel 9. Rerata jumlah alel dari marka SSR hasil amplifikasi sebanyak 16 alel per marka dengan 9–25 alel per lokus. Jumlah alel yang terdeteksi pada penelitian ini masih lebih tinggi dibanding dengan hasil penelitian Santoso et al. (2006) yang mendeteksi 116 alel, tetapi lebih rendah dibanding dengan hasil penelitian Ying-Hui et al. (2011) yang berhasil mendeteksi 781 alel.

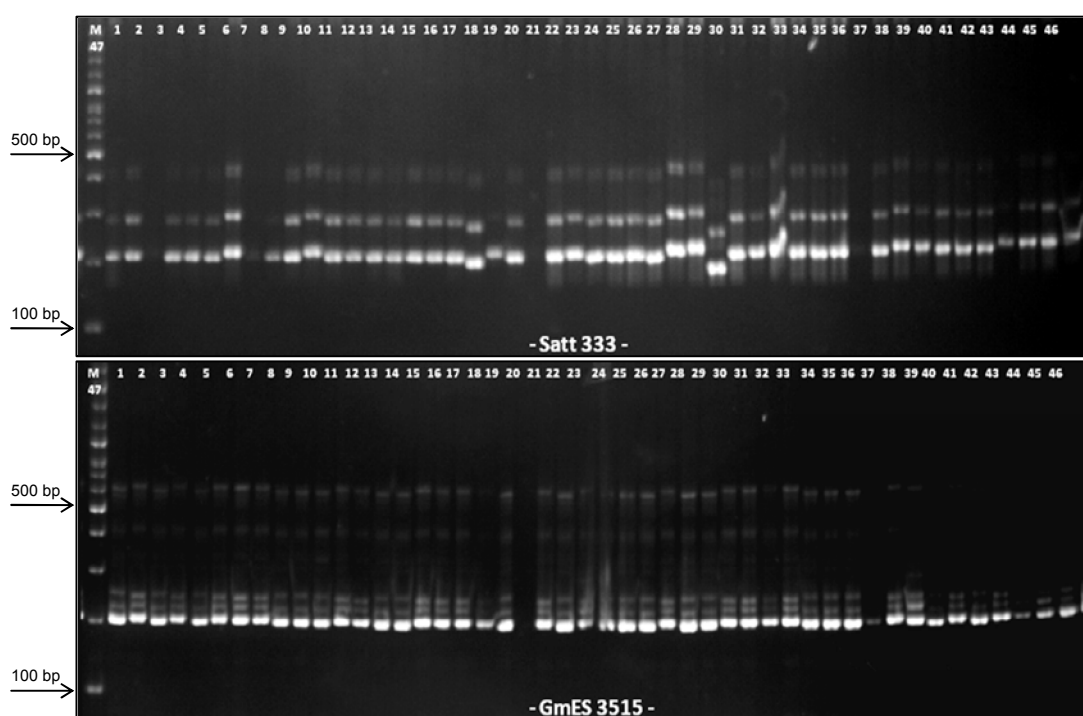
Pada penelitian ini diperoleh rerata jumlah alel per lokus sebesar 15,6, lebih banyak dibanding dengan hasil penelitian Mulato et al. (2010) dengan rerata 8,6 alel per lokus, Wang et al. (2015) dengan

12,2 alel per lokus, dan Ying-Hui et al. (2011) dengan 9,4 alel per lokus. Hal ini dikarenakan jumlah aksesi dan marka yang digunakan dalam penelitian ini lebih sedikit dibanding dengan penelitian-penelitian tersebut. Jumlah alel tertinggi yang diperoleh dalam penelitian ini sama dengan hasil penelitian Risliawati et al. (2015) yang memperoleh 25 alel per lokus.

Rerata frekuensi alel utama yang diperoleh pada penelitian ini adalah 18% dengan nilai tertinggi sebesar 30% pada marka GmES2225 dan nilai terendah sebesar 12% pada marka Satt125. Sementara itu, Ying-Hui et al. (2011) memperoleh rentang frekuensi alel utama yang lebih besar. Seluruh marka SSR yang digunakan mampu mendeteksi alel heterozigot dengan nilai heterozigositas antara 0,02 (GmES1604) dan 0,90 (Satt125).

Nilai diversitas gen menunjukkan tingkat keragaman genetik pada suatu populasi (Somantri et al. 2002), yaitu antara 0,85 (GmES2225) dan 0,95 (Satt125) dengan rerata 0,90. Nilai rerata diversitas gen pada penelitian ini lebih tinggi dibanding dengan penelitian yang dilakukan oleh Ying-hui et al. (2011).

Nilai PIC diperlukan untuk memilih marka yang dapat membedakan antaraksesi kedelai yang diuji. Kuantifikasi PIC adalah jumlah alel yang dapat dihasilkan oleh suatu marka dan frekuensi tiap alel dalam set aksesi yang diuji. Nilai polimorfisme itu sendiri ditentukan oleh frekuensi dan distribusi alel yang ditemukan Suryatini (2011) dan Ghosh (2014).



Gambar 5. Hasil elektroforesis gel poliakrilamid 8% dengan marka Satt333 dan GmES3515. M = 100 bp DNA Ladder.

Tabel 9. Jumlah alel, frekuensi alel utama, diversitas gen, heterozigositas, dan tingkat polimorfisme (PIC) yang dihasilkan oleh 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina.

Lokus	Jumlah alel	Frekuensi alel utama	Diversitas gen	Heterozigositas	PIC
GmF35H	17	0,19	0,91	0,04	0,90
SoyF3H	21	0,15	0,90	0,51	0,90
Sat_286	12	0,17	0,90	0,64	0,89
GmES1173	10	0,19	0,89	0,08	0,87
Satt288	14	0,16	0,91	0,64	0,91
Satt125	25	0,12	0,95	0,90	0,94
Satt100	16	0,13	0,92	0,07	0,92
Satt333	22	0,13	0,93	0,71	0,92
GmES0216	22	0,22	0,90	0,79	0,89
GmES2225	11	0,30	0,85	0,63	0,84
GAAT47	14	0,21	0,90	0,68	0,89
GmES1604	9	0,21	0,87	0,02	0,86
GATT43	14	0,17	0,89	0,03	0,89
GmES1424	10	0,19	0,87	0,03	0,86
GmES3515	17	0,13	0,92	0,62	0,92
Jumlah	234				
Rerata	15,6	0,18	0,90	0,43	0,89

Terdapat kecenderungan semakin tinggi nilai PIC, semakin banyak alel yang terdeteksi yang menunjukkan relevansi dengan hasil penelitian (Yu et al. 2003). Tingginya nilai rerata PIC merupakan petunjuk tingginya keragaman genetik plasma nutfah yang diuji. Seluruh marka SSR yang digunakan menghasilkan nilai PIC lebih besar dari 0,5, yaitu antara 0,84 (GmES2225) dan 0,94 (Satt125) sehingga berdasarkan Botstein et al. (1980) dan Hildebrand et al. (1992), serta merujuk pada hasil penelitian Risliawati et al. (2015), seluruh marka SSR tersebut bersifat sangat informatif (PIC >0,5) dalam membedakan antaraksesi kedelai introduksi asal Cina yang diuji karena menghasilkan tingkat variasi alel yang tinggi. Nilai rerata PIC pada penelitian ini lebih tinggi dibanding dengan penelitian yang dilakukan oleh Ribeiro et al. (2013).

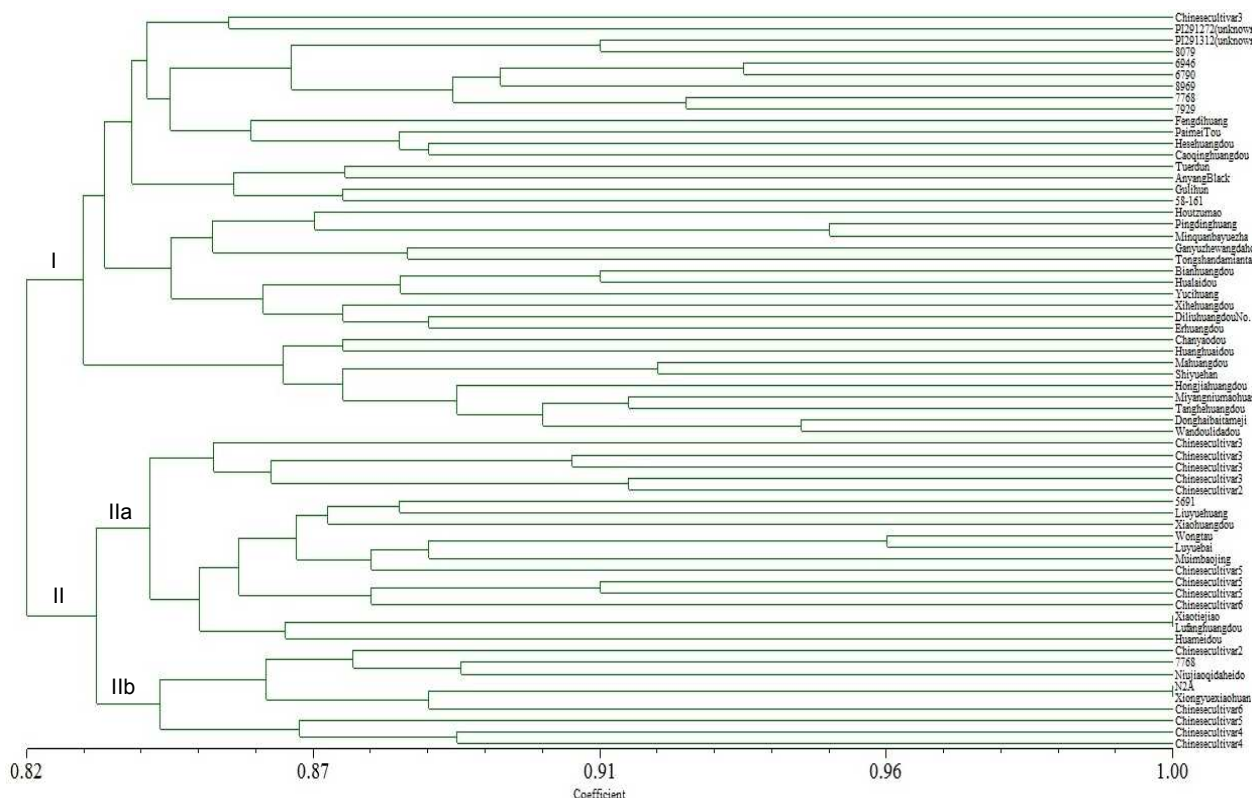
Analisis filogenetik

Analisis filogenetik dilakukan untuk mengidentifikasi hubungan kekerabatan antaraksesi (Utami et al. 2011). Analisis filogenetik terhadap 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina berdasarkan marka SSR dilakukan berdasarkan hasil observasi terhadap seluruh frekuensi alel yang muncul. Pada tingkat kesamaan 84% terbentuk tiga kelompok utama (Gambar 6), kelompok pertama terdiri atas 13 aksesori, kelompok kedua terdiri atas 26 aksesori, dan kelompok ketiga terdiri atas 9 aksesori.

Berdasarkan hasil analisis kesamaan genetik, tiga kelompok utama berdasarkan total marka SSR yang digunakan dalam penelitian menggambarkan tingkat kekerabatan yang jauh di antara ketiga kelompok aksesori kedelai asal Cina, akan tetapi secara genetik aksesori yang berada dalam kelompok yang sama lebih dekat jarak kekerabatannya. Hal tersebut

selaras dengan hasil penelitian Mustofa et al. (2013) yang menyimpulkan bahwa semakin tinggi nilai indeks kesamaan, semakin dekat hubungan kekerabatan. Berdasarkan hasil analisis filogenetik, sebagian besar aksesori kedelai yang berasal dari provinsi yang sama mengelompok di satu kelompok, seperti aksesori kedelai asal Provinsi Jilin (8079, 6946, 6790, 7768, dan 7929), Provinsi Shaanxi (Huang Huai Dou, Shi Yue Han, Yu Ci Huang, dan Hong Jia Huang Dou), dan Provinsi Henan (Min Quan Ba Yue Zha, Mi Yang Niu Mao Huan, dan Tang He Huang Dou). Hal tersebut menunjukkan bahwa marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini mampu mengelompokkan aksesori berdasarkan asal provinsinya.

Hasil karakterisasi molekuler akan sangat membantu efisiensi program pemuliaan seleksi kedelai (Kumawat et al. 2014). Hasil pengelompokan 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina menggunakan 15 marka SSR tersebut sesuai dengan data karakter morfologis yang diperoleh, misalnya aksesori Lu Fang Huang Dou, Hua Mei Dou, Xiao Huang Dou, Wong Tau, Liu Yue Huang, dan Xiao Tie Jiao yang berada pada kelompok kedua, memiliki kesamaan karakter warna pusa biji dan warna trikoma. Aksesori Xiao Tie Jiao dan Lu Fang Huang Dou, juga aksesori N2A dan Xiong Yue Xiao Huang Dou diduga memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat dengan nilai koefisien kesamaan genetik 94,2%. Oleh karena itu, kedua pasang aksesori tersebut tidak disarankan untuk dijadikan tetua persilangan karena dapat menyebabkan terjadinya fenomena *inbreeding depression* pada kedelai. Kedelai merupakan tanaman menyerbuk sendiri. Penyerbukan sendiri secara terus menerus dapat meningkatkan terjadinya *inbreeding depression*



Gambar 6. Dendrogram 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina berdasarkan 15 marka SSR yang dianalisis menggunakan perangkat lunak NTSYS.

atau penurunan nilai karakter akibat penggabungan gen yang sama sehingga genotipe yang dihasilkan semakin homozigot. Jika gen tersebut merupakan gen resesif yang mengendalikan sifat kurang baik, maka dalam kondisi homozigot sifat tersebut akan muncul dan mendorong terjadinya *inbreeding depression* (Lynch 1991; Singh 1990). Fenomena *inbreeding depression* dapat diminimalkan pada tanaman kedelai jika dilakukan penyerbukan silang antartetua persilangan dengan hubungan kekerabatan cukup jauh. Selain itu, hubungan kekerabatan yang cukup jauh antartetua persilangan juga dapat menghasilkan keragaman genetik tinggi pada keturunannya.

Terdapat kesesuaian hasil analisis koordinat utama dengan hasil analisis filogenetik, yaitu seluruh galur kedelai introduksi yang digunakan mengelompok menjadi tiga kelompok besar. Hasil analisis filogenetik berdasarkan marka SSR dan analisis koordinat utama berdasarkan karakter morfologis mengindikasikan adanya keragaman dan derajat kesamaan genetik antar 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina yang digunakan dalam penelitian. Hasil tersebut memberikan petunjuk bahwa keragaman genetik pada aksesori kedelai introduksi asal Cina penting sebagai informasi awal untuk seleksi materi genetik tetua persilangan dalam pemuliaan tanaman.

Asosiasi antara Alel SSR dan Karakter Morfologis

Analisis asosiasi dilakukan untuk mendeteksi marka SSR yang potensial berasosiasi secara nyata dengan karakter morfologis. Sebanyak 7 marka dari 15 marka SSR berasosiasi signifikan dan 3 marka di antaranya berasosiasi sangat signifikan dengan karakter morfologis dengan nilai total variasi (R^2) antara 0,1725 (GMES2225) dan 0,7845 (Sat_286) (Tabel 10).

Terdapat 2 marka SSR yang memiliki asosiasi nyata dengan karakter warna kulit biji, yaitu Satt288 dan Satt100, serta 2 marka yang berasosiasi sangat nyata (P value < 0,001) dengan karakter warna kulit biji, yaitu Sat_286 dan GMES2225. Hasil penelitian Aranzana et al. (2005) menunjukkan bahwa asosiasi marka yang sangat nyata dapat ditemukan pada populasi dengan sampel yang berasal dari lokasi geografis yang beragam. Warna kulit biji merupakan salah satu karakter penting dalam industri pangan di Indonesia dan sampai saat ini setidaknya telah teridentifikasi lima alel yang mengendalikan karakter warna pada kulit biji secara epistasi, yaitu alel I, T, W1, R, dan O (Palmer et al. 2004).

Marka GmF35H berasosiasi sangat nyata dengan tinggi tanaman serta berasosiasi nyata dengan karakter warna bunga, hasil tersebut sejalan dengan

Tabel 10. Analisis asosiasi marka SSR dan karakter morfologis pada aksesori kedelai introduksi asal Cina.

Marka	Kromosom	Karakter terkait	R ²	P_value
GmF35H	13	Warna bunga	0,4217	0,02650
		Tinggi tanaman	0,7695	0,0021*2
Sat_286	6	Warna kulit biji	0,7845	0,0001*
Satt288	18		0,5820	0,03260
Satt100	6		0,4550	0,04350
GMES2225	13		0,6590	0,0022*
		Warna polong masak	0,1725	0,04310
GMES1173	3	Warna pusar biji	0,3905	0,01290
		Warna trikoma	0,3377	0,04230
GMES3515	13	Warna pusar biji	0,6758	0,02630

Angka yang diikuti oleh tanda * berasosiasi sangat nyata pada taraf 1% ($P_{value} < 0,001$) dan R² mengindikasikan persentase variasi total.

hasil penelitian Ibarra et al. (2011) yang menyatakan bahwa marka GMF35H dapat mengelompokkan secara konsisten beberapa varietas kedelai berdasarkan perbedaan karakter warna bunga. Pigmentasi warna bunga pada kedelai dikontrol oleh lokus gen W1, W4, dan Wp (Yang et al. 2010). Marka GMES1173 berasosiasi nyata dengan tiga karakter sekaligus, yaitu warna polong masak, warna pusar biji, dan warna trikoma, sedangkan marka GMES3515 hanya berasosiasi nyata dengan karakter warna pusar biji. Berdasarkan hasil penelitian Suhartina et al. (2016), warna polong berkorelasi positif dengan bobot biji pertanaman, yaitu semakin tua warna polong akan diikuti dengan kenaikan bobot biji per tanaman. Marka SSR yang berasosiasi sangat nyata dengan karakter morfologis ini perlu divalidasi lebih lanjut dengan menggunakan materi genetik dengan keragaman genetik luas dan jumlah lebih banyak sehingga meningkatkan presisi dalam pemuliaan seleksi kedelai di Indonesia.

KESIMPULAN

Keragaman genetik 48 aksesori kedelai introduksi asal Cina berdasarkan karakter morfologis dan molekuler termasuk ke dalam kategori sedang. Analisis komponen utama menghasilkan dua komponen utama dengan proporsi keragaman 46,92% pada karakter morfologis kualitatif dan 89,75% pada karakter morfologis kuantitatif. Karakter tinggi tanaman, bobot 100 biji, hasil biji, warna pusar biji, warna trikoma, warna bunga, dan warna polong merupakan karakter yang berkontribusi signifikan terhadap keragaman total.

Analisis keragaman genetik berdasarkan 15 marka SSR menunjukkan tiga pengelompokan utama pada koefisien kemiripan genetik 0,84. Kelompok pertama terdiri atas 13 aksesori, kelompok kedua terdiri atas 26 aksesori, dan kelompok ketiga terdiri atas 9 aksesori. Asosiasi yang signifikan ditemukan pada 7

marka SSR dan 3 marka di antaranya berasosiasi sangat signifikan dengan karakter warna kulit biji, yaitu Sat_286 dan GMES2225, serta GmF35H berasosiasi sangat signifikan dengan karakter tinggi tanaman. Seluruh marka SSR tersebut bersifat informatif dengan tingkat polimorfisme cukup tinggi serta mampu mengelompokkan aksesori-aksesori kedelai introduksi asal Cina sehingga dapat dikembangkan sebagai *marker assisted selection* (MAS).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih pada Dr. Suk-Ha Lee atas bantuannya dalam penelusuran aksesori kedelai koleksi USDA. Penulis juga menyampaikan terima kasih pada Dr. Asadi yang telah membantu dalam penyediaan materi genetik di lapang.

DAFTAR PUSTAKA

- Adalgisa, R.T., Grunvald, A.K., Martins, T.B., Santos, M.A.D., Lemos, N.G., Silva, L.A.S. & Hungria, M. (2014) Genetic structure and diversity of a soybean germplasm considering biological nitrogen fixation and protein content. *Scientia Agricola*, 72(1), 47–52.
- Adie, M.M. (2007) *Panduan pengujian individual, kebaruan, keunikan, keseragaman, dan kestabilan kedelai*. Departemen Pertanian Republik Indonesia, Pusat Perlindungan Varietas Tanaman.
- Afuape, S.O., Okocha, P.I. & Njoku, D. (2011) Multivariate assessment of the agromorphological variability and yield components among sweetpotato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) landraces. *African Journal of Plant Sciences*, 5 (2), 123–132.
- Aranzana, M.J., Kim, S., Zhao, K., Bakker, E., Horton, M., Jakob, K., Lister, C., Molitor, J., Shindo, C., Tang, C., Toomajian, C., Traw, B., Zheng, H., Bergelson, J., Dean, C., Marjoram, P. & Nordborg, M. (2005) Genome-wide association mapping in *Arabidopsis* identifies previously known flowering time and pathogen resistance genes. *PLoS Genetics*, 1, e60. doi: 10.1371/journal.pgen.0010060.

- Asadi (2014) Pendayagunaan kedelai introduksi dalam perbaikan varietas. *Warta Biogen*, 10 (1), 8–10.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. & Davis, R.W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32, 314–331.
- Bradbury, P.J., Zhang, Z., Kroon, D.E., Casstevens, T.M., Ramdoss, Y. & Buckler, E.S. (2007) TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23(19), 2633–2635.
- Carvalho, S.I.C., Ragassi, C.F., Oliveira, L.B., Amaral, Z.P.S., Reifschneider, F.J.B., Faleiro, F.G. & Buso, G.S.C. (2015) Transferability of microsatellite markers of *Capsicum annuum* L. to *C. frutescens* L. and *C. Chinense* Jacq. *Genetics and Molecular Research*, 14(3), 7937–7946.
- Chae, S.S. & Warde, W.D. (2006) Effect of using principal coordinates and principal components on retrieval of clusters. *Computational Statistics and Data Analysis*, 50, 1407–1417.
- Chiang, Y.C., Tsai, C.M., Chen, Y.K.H., Lee, S.R., Chen, C.H., Lin, Y.S. & Tsai, C.C. (2012) Development and characterization of 20 new polymorphic microsatellite markers from *Mangifera indica* (Anacardiaceae). *American Journal of Botany*, e117–e119. doi: 10.3732/ajb.1100443.
- Corte, A.D., Moda-Cirino, V., Arias, C.A.A., de Toledo, J.F.F. & Destro, D. (2010) Genetic analysis of seed morphological traits and its correlations with grain yield in common bean. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53 (2), 27–34.
- Dawei, X., Sun, J., Wang, J., Jiang, H., Hu, G., Liu, C. & Chen, Q. (2012) Identification and characterization of SSRs from soybean (*Glycine max*) ESTs. *Molecular Biology Reports*, 39 (9), 9047–9057.
- Direktorat Jenderal Tanaman Pangan. (2015) *Petunjuk Teknis Pengelolaan Produksi Kedelai dan Bantuan Pemerintah Tahun Anggaran 2016*. Kementerian Pertanian, Direktorat Jenderal Tanaman Pangan.
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13–15.
- Elizangela, A.R., Paiva, L.V., Carvalho, H.H.D. & Guimaraes, C.T. (2010) Molecular characterization and genetic diversity of potato cultivars using SSR and RAPD markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 10, 204–210.
- Ghosh, J., Ghosh, P.D. & Choudhury, P.R. (2014) An assessment of genetic relatedness between soybean (*Glycine max* [L.] Merrill) cultivars using SSR markers. *American Journal of Plant Sciences*, 5, 3089–3096.
- Haydar, A., M.B., Hannan, M.M., Razvy, M.A., Mandal, M.A., Salihin, M., Karim, R. & Hossain, M. (2007) Analysis of genetic diversity in some potato varieties grown in Bangladesh. *Middle East Journal of Scientific Research*, 2, 143–145.
- Hildebrand, E., Torney, D.C. & Wagner, R.P. (1992) Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Science*, 20, 100–102.
- Hisano, H., Sato, S., Isobe, S., Sasamoto, S., Wada, T., Matsuno, A., Fujishiro, T., Yamada, M., Nakayama, S., Nakamura, Y. et al. (2007) Characterization of the soybean genome using EST-derived microsatellite markers. *DNA Research*, 14, 271–281.
- Hong, L. & Guo, H. (2014) Using SSR to evaluate the genetic diversity of potato cultivars from Yunnan province (SW China). *Acta Biologica Cracoviensis Series Botanica*, 56 (1), 16–27.
- Ibarra, M., Castro, A. & Capdevielle, F. (2011) *Development of functional markers associated with phenotypic traits for identification in soybean BMT/13/9*. Working Group on Biochemical and Molecular Techniques, and DNA-Profiling in Particular. UPOV.
- Ibarra, M., Ibarra, M., Castro, A. & Capdevielle, F. (2013) Desarrollo de marcadores funcionales asociados a caracteres fenotípicos para identificación varietal en soja (Development of functional markers associated with phenotypic traits for variety identification in soybean). *Agrociencia Uruguay*, 17 (1), 1–10.
- Iqbal, S., Mahmood, T., Tahira, Ali, M., Anwar, M. & Sarwar, M. (2003) Path coefficient analysis in different genotypes of soybean (*Glycine max* [L.] Merrill). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6 (12), 1085–1087.
- Iqbal, Z., Arsyad, M., Macmood, T. & Waheed, A. (2008) Evaluation of soybean (*Glycine max* [L.] Merrill) germplasm for some important morphological traits using multivariate analysis. *Pakistan Journal of Botany*, 40, 2323–2328.
- Jambormias, E., Sutjahio, S.H., Jusuf, M. & Suharsono. (2007) Keragaan, keragaman genetik, dan heritabilitas sebelah sifat kuantitatif kedelai (*Glycine max* L. Merrill) pada generasi seleksi F₅. *Jurnal Pertanian Kepulauan*, 3 (2), 115–124.
- Jamet, J.P. & Chaumet, J.M. (2016) Soybean in China: Adapting to the liberalization. *Oilseeds and Fats, Crops and Lipids Journal*, 23 (6), 1–9.
- Jiaowen, C., Zhao, Z., Li, B., Qin, C., Wu, Z., Diana, L., Saavedra, T., Luo, X., Cui, J., Rivera-bustamante, R.F. et al. (2016) A comprehensive characterization of simple sequence repeats in pepper genomes provides valuable resources for marker development in *Capsicum*. *Nature Scientific Reports*, 6, 1–12.
- Kristamtini, Taryono, Basunanda, P. & Murti, R.H. (2014) Keragaman genetik kultivar padi beras hitam lokal berdasarkan penanda mikrosatelit. *Jurnal AgroBiogen*, 10 (2), 69–76.
- Kumar, A., Pandey, A., Aochen, C. & Pattanayak, A. (2015) Evaluation of genetic diversity and interrelationships of agro-morphological characters in soybean (*Glycine max*) genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 85 (2), 397–405.

- Kumawat, G., Singh, G., Ireesh, C., Shivakumar, M., Arya, M., Agarwal, D.K. & Husain, S.M. (2014) Molecular characterization and genetic diversity analysis of soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) germplasm accessions in India. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21 (1), 101–107.
- Liu, K. & Muse, S.V. (2005) *PowerMaker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis*. North Carolina State University, Bioinformatics Research Center.
- Liu, M., Zhang, M., Jiang, W., Sun, G., Zhao, H. & Hu, S. (2011) Genetic diversity of Shaanxi soybean landraces based on agronomic traits and SSR markers. *African Journal of Biotechnology*, 10, 4823–4837.
- Lumbantobing, E., Kardhinata, E.H. & Rosmayati. (2013) Respons pertumbuhan dan produksi beberapa varietas kedelai hitam (*Glycine Max* L.) berdasarkan ukuran biji. *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 1 (3), 440–452.
- Lynch, M. (1991) The genetic interpretation of inbreeding depression and outbreeding depression. *Evolution*, 45 (3), 622–629.
- Mahbub, M.M., Rahman, M.M., Hossain, M.S., Nahar, L. & Shirazy, B.J. (2016) Morphophysiological variation in soybean (*Glycine max* [L.] Merrill). *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 16 (2), 234–238.
- Malek, M.A., Rafii, M.Y., Afroz, M.S.S., Nath, U.K. & Mondal, M.M.A. (2014) Morphological characterization and assessment of genetic variability, character association, and divergence in soybean mutants. *The Scientific World Journal*, Article ID 968796, 12 pages.
- Meng, F., Yang, X.X., Lan, H.F. & Fu, L.J. (2010) Analysis of genetic diversity in cultivated and wild tomato varieties in Chinese market by RAPD and SSR. *Journal Agricultural Sciences in China*, 9 (10), 1430–1437.
- Mulato, B.M., Moller, M., Zucchi, M.I., Quecini, V. & Pinheiro, J.B. (2010) Genetic diversity in soybean germplasm identified by SSR and EST-SSR markers. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45 (3), 276–283.
- Mustofa, Z., Budiarsa, I.M. & Samdas, G.B.N. (2013) Variasi genetik jagung (*Zea mays* L.) berdasarkan karakter fenotipik tongkol jagung yang dibudidayakan di Desa Jono Oge. *Jurnal Elektronik Prodi Biologi*, 1 (1), 33–41.
- Nasir, M. (2001) *Pengantar pemuliaan tanaman*. Jakarta, Departemen Pendidikan Nasional, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. hlm. 206–208.
- Nicholai, M., Cantet, M., Lefebvre, V., Palloix, A.S. & Palloix, A. (2013) Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60 (8), 2375–2390.
- Qiu, L., Xing, L., Gui, Y., Wang, J., Jackson, S.A. & Chang, R. (2013) A platform for soybean molecular breeding: The utilization of core collections for food security. *Plant Molecular Biology*, 83 (1–2), 41–50.
- Palmer, R.G., Pfeiffer, T.W., Buss, G.R. & Kilen, T.C. (2004) Qualitative genetics. In: Boerma, H.R. & Specht, J.E. (eds.) *Soybeans: Improvement, production, and uses*. Madison (WI): ASA, CSSA, and SSA. pp. 137–214.
- Rahman, M.M., Rasul, M.G., Bashar, M.K., Syed, M.A., Saleh, S.A. & Islam, M.R. (2011) Parent selection for transplanted Aman rice breeding by morphological, physiological, and molecular diversity analysis. *Libyan Agriculture Research Center Journal International*, 2 (7), 26–28.
- Ribeiro, C.A.G., Tanure, J.P.M., Maciel, T.E.F. & Barros, E.G.D. (2013) Molecular characterization of soybean cultivars by microsatellite markers with universal tail sequence. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48 (3), 270–279.
- Risliawati, A., Riyanti, E.I., Lestari, P., Utami, D.W. & Silitonga, T.S. (2015). Development of SSR marker set to identify forty two Indonesian soybean varieties. *Jurnal AgroBiogen*, 11 (2), 49–58.
- Rohlf, F.J. (2000) *NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis sistem. Version 2.1*. New York, Exeter Software.
- Salimi, S., Lahiji, H.S., Abadi, G.M., Salimi, S. & Moradi, S. (2012) Genetic diversity in soybean genotypes under water stress and normal condition using factor analysis and cluster analysis. *World Applied Sciences Journal*, 16 (4), 474–478.
- Santoso, T.J., Utami, D.W. & Septiningsih, E. (2006) Analisis sidik jari DNA plasma nutfah kedelai menggunakan markah SSR. *Jurnal AgroBiogen*, 2 (1), 1–7.
- Saptadi, D., Hartati, R.R.S., Setiawan, A., Heliyanto, B. & Sudarsono. (2011) Pengembangan marka *simple sequence repeat* untuk *Jatropha* spp. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 17 (4), 140–149.
- Sarwono, J. (2009) *Statistik itu mudah: Panduan lengkap untuk belajar komputasi statistik menggunakan SPSS 16*. Yogyakarta, Andi Publishers.
- Shankar, R., Bagle, B.G. & More, T.A. (2009) Diversity analysis of bitter melon (*Melastoma malabaricum* Medik): Their molecular diversity and possible origin. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54, 1023–1031.
- Singh, R.K. & Choudhury, B.D. (1979) *Biometrical methods in quantitative genetic analysis*. New Delhi-India, Kalyani Publisher Ludhiana.
- Singh, B.D. (1990) *Plant breeding principles and methods*. New Delhi-India, Kalyani Publisher Ludhiana.
- Suhartina, R., Hapsari, T. & Purwantoro. (2016) Keragaman plasma nutfah kedelai berdasarkan keragaman karakter morfo-agronomis. *Buletin Plasma Nutfah*, 22 (2), 109–118.

- Sumarno & Hartono. (1983) *Kedelai dan cara bercocok tanamnya*. Bogor, Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan.
- Surahman, M., Santosa, E. & Nisya, F.N. (2009) Karakterisasi dan analisis gerombol plasma nutfah jarak pagar Indonesia dan beberapa negara lain menggunakan marka morfologi dan molekuler. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 37 (3), 256–264.
- Surapaneni, M., Vemireddy, L.R., Begum, H., Reddy, B.P., Neetasi, C., Nagaraju, J., Anwar, S.Y. & Siddiq, E.A. (2013) Population structure and genetic analysis of different utility types of mango (*Mangifera indica* L.) germplasm of Andhra Pradesh state of India using microsatellite markers. *Plant Systematics and Evolution*, 299, 1215–1229.
- Suryatini, K.Y. (2011) *Analisis keragaman genetik jarak pagar (Jatropha curcas L.) dengan metode inter simple sequence repeats (ISSR)*. Tesis S2, Universitas Udayana.
- Suyamto (2016) Karakter kualitatif dan kuantitatif plasma nutfah kedelai. Dalam: Rahmianna, A.A., Harnowo, D., Sholihin, Nugrahaeni, N., Taufiq, A., Suharsono, Yusnawan, E., Ginting, E., Rozi, F., Hermanto (editor) *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi*. hlm. 137–143.
- Tasliyah, Rijzaani, H., Hariyadi, T.Z.P., Yuriah, S., Rebin, Ma'sumah & Silitonga, T.S. (2013) Analisis keragaman genetik 161 aksesori mangga Indonesia menggunakan marka mikrosatelit. *Jurnal AgroBiogen*, 9 (3), 125–134.
- Tasma, I.M., Warsun, A., Satyawan, D., Syafaruddin & Martono, B. (2013) Analisis kekerabatan 50 aksesori kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) asal Kamerun berdasarkan marka mikrosatelit. *Jurnal AgroBiogen*, 9 (1), 19–27.
- Utami, D.W., Sutoro, Hidayatun, N., Risliawati, A. & Hanarida, I. (2011) Keragaman genetik 96 aksesori plasma nutfah padi berdasarkan 30 marka SSR terpaut gen pengatur waktu pembungaan (*HD genes*). *Jurnal AgroBiogen*, 7 (2), 76–84.
- Wang, L.X., Guan, R.X., Li, Y.H., Lin, F.Y., Luan, W.J., Li, W., Ma, Y.S., Liu, Z.X., Chang, R.Z. & Qiu, L.J. (2008) Genetic diversity of Chinese spring soybean germplasm revealed by SSR markers. *Plant Breeding*, 127, 56–61.
- Wang, Y.H., Zhang, X.J. & Fan, S.J. (2015) Genetic diversity of wild soybean populations in Dongying, China, by simple sequence repeat analysis. *Genetics and Molecular Research*, 14 (3), 11613–11623.
- Widaningsih, S.A., Purwanto, E., Nandariyah & Reflinur (2014) The use of DNA microsatellite markers for genetic diversity identification of soybean (*Glycine max* [L.] Meriill) as a supplementary method in reference collections management. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 19 (2), 136–145.
- Winarno, F.G. (1976) *The present status of soybean in Indonesia*. Bogor, Institut Pertanian Bogor.
- Yan, W., Maoying, Y., Wenyu, Y., Weiguo, L. & Taiwen, Y. (2011) Multivariate analysis on isoflavone content for soybean land races in Sichuan Basin. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 11, 1380–1393.
- Yang, K., Jeong, N., Moon, J.K., Lee, Y.H., Kim, H.M., Hwang, C.H., Back, K., Palmer, R.G. & Jeong, S.C. (2010) Genetic analysis of genes controlling natural variation of seed coat and flower colors in soybean. *Journal of Heredity*, 101 (6), 757–768.
- Ying-hui, L., Guan, R., Liu, Z., Ma, Y., Wang, L., Li, L., Lin, F., Luan, W., Chen, P., Yan, Z. et al. (2008) Genetic structure and diversity of cultivated soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) landraces in China. *Theoretical and Applied Genetics*, 117 (6), 857–871.
- Ying-hui, L., Smulders, M.J.M., Chang, R. & Qiu, L. (2011) Genetic diversity and association mapping in a collection of selected Chinese soybean accessions based on SSR marker analysis. *Conservation Genetics*, 125, 1145–1157.
- Yu, S.B., Xu, W.J., Vijayakumar, Ali, J., Fu, B.Y., Xu, J.L., Jiang, Y.Z., Maghirang, R., Domingo, J., Aquino, C. et al. (2003) Molecular diversity and multilocus organization of the parental lines used in the international rice molecular breeding program. *Theoretical and Applied Genetics*, 108 (1), 131–140.
- Zainudin, A., Maftuchah, Martasari, C. & Santoso, T.J. (2010). *Keragaman genetik beberapa kultivar tanaman mangga berdasarkan penanda molekuler mikrosatelit*. Kongres Ketiga Komisi Daerah Sumber Daya Genetik.
- Zhang, G., Xu, S., Mao, W., Hu, Q. & Gong, Y. (2013) Determination of the genetic diversity of vegetable soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) using EST-SSR markers. *Journal of Zhejiang University*, 14 (4), 279–288.